

毛叶秋海棠叶片组织培养快速繁殖

郑 若 仙

(中国科学院昆明植物研究所)

RAPID PROPAGATION OF BEGONIA REX BY USING THE TISSUE CULTURE OF LEAF BLADE

Zheng Ruoxian

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

关键词 毛叶秋海棠; 组织培养; 快速繁殖

Key Words *Begonia rex*; Tissue culture; Rapid propagation

毛叶秋海棠(*Begonia rex* Puts.)通常是用叶片进行繁殖。但繁殖系数不高, 在短期内要得到大量繁殖植株是有困难的。采用离体叶片进行组织培养, 能够做到快速无性繁殖。

材料与方 法 实验材料为昆明植物园温室内盆栽的毛叶秋海棠。取植株上一年生左右的叶片, 剪下后用自来水冲洗干净, 用75%酒精进行表面灭菌。再在无菌条件下, 用0.1%升汞液浸10分钟, 无菌水冲洗5—6次, 然后将叶片切成边长0.5—1厘米的方形小块, 放在培养瓶中进行培养。基本培养基为改良MS¹⁾, 附加BA(6-苄基嘌呤)、IAA(吲哚乙酸)。培养基的pH在灭菌前用1N NaOH调至6。把培养基分装在三角瓶中, 在15磅/平方吋压力下灭菌20分钟。培养室温度为24—26°C。每天照光10—12小时, 光照强度为1000米烛光。

结果与讨论 1. 幼苗的发生 培养前的叶片, 上、下表皮均有密集红色细绒毛, 主脉及两侧的网状叶脉较为明显。叶片切块接种在附加适量的BA、适量的IAA的改良MS培养基上。培养15天后, 即可观察到叶片上表皮红色绒毛变软变细, 叶片红色减退, 下表皮绒毛萎缩, 叶脉变得不明显, 叶片绿色变淡。培养约25天时, 观察到叶片均匀地愈伤组织化, 表皮上的绒毛基本消失。这时在解剖镜下可观察到在表皮上有很多小的突起

本文于1984年5月7日收到。

1) Cheng, T.Y. 1975: Adventitious bud formation in culture of Douglasfir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb Franco). *Plant Science Letters*. 5: 97—102

(上表皮上数量较多, 下表皮上数量较少), 小突起大小不等, 少数的已经发育成小芽、小叶片, 此时在原培养的一平方厘米的叶片上, 约有小突起 100 个; 并且在新形成的一个小叶片上, 又有 10 余个突起。培养 35 天, 用肉眼即可以看见叶片表面上分化出来的密集的不定芽 (叶背面不定芽较少) (图 1)。

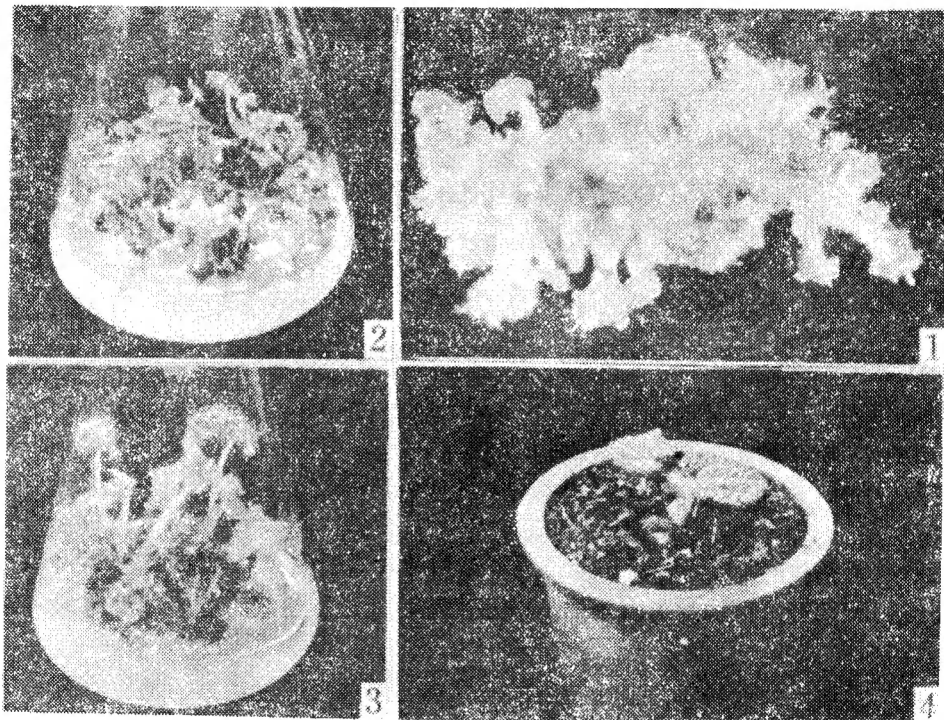


图 1 培养 35 天时的叶片, 肉眼可看到上表皮分化的不定芽 ($\times 6.3$)。图 2 培养 50 天, 不定芽生长的同时, 基部叶片不断分化出小芽 ($\times 1/2$)。图 3 转入 MS+NAA 培养基后, 小苗茁壮生长 ($\times 1/2$)。图 4 移栽入土壤 30 天, 已长出新叶。

Fig. 1 When the leaf blade was cultured for 35 days, the dense adventitious buds differentiated from the epicuticle can be seen with the naked eye ($\times 6.3$).

Fig. 2 When the leaf blade cultured for 50 days, at the same time that adventitious buds are growing, small propagula are continuously differentiating from basal leaf blade of the adventitious buds ($\times 1/2$).

Fig. 3 The plantlets are thriving after the adventitious buds transferred to MS+NAA medium ($\times 1/2$).

Fig. 4 The new leaves grow out when the plantlets had been transplanted into the soil for 30 days.

叶片接种在仅加入适量的 BA 的 MS、N6 及改良 MS 培养基上, 表皮细胞也可分化出较密集的丛芽团, 但均不及培养在适量的 BA+适量的 IAA 的改良 MS 培养基上的丛芽数量多和小苗健壮。如果在加入 KT 的 MS 培养基上培养, 则不发生丛芽, 而出现丝状根。在只加入 NAA 的 White、MS、N6 培养基上, 表皮细胞也只分化根而不分化芽。

2. 植株的成长 从表皮细胞分化出来的不定芽, 在原培养基上虽能生长, 而且相继

也能长出许多不定根，但小苗生长较为缓慢，而且在小苗叶片上又不停的分化出很多不定芽。同一个三角瓶内出现了大小不等几代芽同堂的现象。因此当不定芽发生后约20天（图2），应将稍微大一点的芽（约0.5厘米高）转入MS+NAA的培养基上，使小苗茁壮成长并重新长出壮根（图3）。再培养30天左右，幼苗即可出瓶移栽。小苗移栽入土壤后，在气温20°C以上、湿度80%的环境下，约20天后即可长出新叶（图4）。移栽成活率的高低，与苗的大小、壮弱有关。若移栽的小苗，小叶片有一平方厘米大，则成活率在90%左右。

3.毛叶秋海棠叶片组织培养的增殖率 以培养一平方厘米的叶片计算，培养35天左右分化出不定芽，由于不断的增殖与分化，约60天即可转接出60株左右的小苗，这些小苗及叶片可继续增殖。以后每45天可转接一次，每年转六次，以此类推，理论上每年繁殖数可达 60^5 株。